

Plantas medicinales y compuestos puros con efecto protector ante el daño hepático que provoca el metotrexato: Revisión bibliográfica

Medicinal plants and pure compounds with a protective effect against liver damage caused by methotrexate: Bibliographic review

María Adelina Jiménez-Arellanes¹ *.

RESUMEN

La hepatotoxicidad es el principal efecto secundario que provoca el metotrexato, fármaco muy utilizado para tratar enfermedades autoinmunes, tumores malignos, cáncer, psoriasis, asma, artritis reumatoide (AR), lupus, embarazo ectópico, leucemia y otros padecimientos. En los últimos años se están realizando investigaciones *in vivo* enfocadas a la búsqueda de agentes hepatoprotectores que ayuden a disminuir el daño causado por este fármaco.

Este trabajo está enfocado a describir el efecto hepatoprotector de algunos compuestos sintéticos y naturales (carvacrol, floridzina, berberina, pentoxifilina, ácido clorogénico, ácido gálico, resveratrol, licopeno, carvacrol, ácido alfa lipoico, ozono y melatonina); así como los extractos orgánicos de plantas medicinales (*Curcuma longa*, *Balanites aegyptica*, *Morus nigra*, *Spinacea oleracea* y el propóleo) que previenen y/o protegen al hígado del daño causado por el metotrexato. La mayoría de estas evaluaciones han sido realizados en modelos *in vivo*, empleando principalmente ratas.

Palabras Clave: Hepatotoxicidad; metotrexato; artritis reumatoide; plantas medicinales; compuestos puros; hepatoprotección.

ABSTRACT

Hepatotoxicity is the main side effect caused by methotrexate, a drug widely used to treat autoimmune diseases, malignant tumors, cancer, psoriasis, asthma, rheumatoid arthritis (RA), lupus, ectopic pregnancy, leukemia and for other diseases. In recent years, *in vivo* research has been carried out focused on the search for hepatoprotective agents that help reduce the damage caused by this drug.

This review is focused on describing the hepatoprotective effect of some synthetic and natural compounds (carvacrol, floridzine, berberine, pentoxifylline, chlorogenic acid, gallic acid, resveratrol, lycopene, carvacrol, alpha lipoic acid, ozone and melatonin); as well as organic extracts from medicinal plants (*Curcuma longa*, *Balanites aegyptica*, *Morus nigra*, *Spinacea oleracea* and propolis) that prevent and/or protect the liver from damage caused by methotrexate. Most of these evaluations have been carried out in *in vivo* models, mainly using rats.

Keywords: Hepatotoxicity; methotrexate toxicity; rheumatoid arthritis; medicinal plants; pure compounds; hepatoprotection.

1. Unidad de Investigación Médica en Farmacología, UMAE Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social. Ciudad de México, México.

* Autor de Correspondencia: adelinajim08@prodigy.net.mx

INTRODUCCIÓN

Efecto farmacológico del metotrexato y artritis reumatoide

El metotrexato (MTX) es anti-metabolito del ácido fólico que se utiliza para el tratamiento y la profilaxis de algunos padecimientos como enfermedades autoinmunes, cáncer, psoriasis, asma, artritis reumatoide (AR), lupus eritematoso, enfermedades neoplásias y embarazo ectópico^{1,2}. Es un Fármaco Antirreumático Modificador de la Enfermedad (FARME) primordial en el tratamiento de la AR utilizado por más de 20 años por su eficacia, tolerabilidad, rápida acción y por su capacidad para detener la progresión de la enfermedad, aunado a su bajo costo; además, es empleado en monoterapia y en combinación con otros fármacos incluyendo la terapia biológica^{3,4}.

La AR se desarrolla con dolor permanente, ardor, hinchazón, hipersensibilidad, enrojecimiento, pérdida de función y movilidad de las articulaciones superiores y después las inferiores; además, provoca inflamación articular crónica, afectando sobre todo el tejido sinovial; también hay daño a nivel de hueso, tendones y ligamentos, deformando las articulaciones. Tiene etiología multifuncional, sistémica, autoinmunitaria, caracterizada fundamentalmente por una poliartritis simétrica episódica, crónica, deformante y por producir discapacidad articular a largo plazo⁵. El diagnóstico se realiza por la interpretación de signos clínicos y síntomas de la enfermedad^{6,7}. Su prevalencia fluctúa entre 0.5 y 2% en la población de países industrializados, con incidencia anual de 200 casos por cada 100,000 habitantes, siendo más frecuente en mujeres que en hombres (relación 3:1) y se presenta entre los 30 y 55 años, aunque puede ocurrir a cualquier edad, y en la actualidad se han reportado casos de AR en personas jóvenes (<25 años). Es un problema de salud pública en todo el mundo, por su gran impacto socioeconómico debido a su prevalencia y a sus complicaciones, en especial por el tratamiento prolongado y por la discapacidad que genera. En México afecta al 1.6% de la población, con mayor incidencia en mujeres y es la primera causa de atención en el servicio de reumatología⁸, genera principalmente invalidez y discapacidad, disminuye la calidad de vida del paciente, ocasionando impacto en la economía del país, del enfermo y de su familia⁹.

El tratamiento de la AR se basa principalmente en el uso de fármacos del grupo FARME (que incluye MTX, azatioprina, sulfasalazina, leflunomida, D-penicilamina) y la terapia biológica, con el objetivo de disminuir los síntomas, prevenir el daño estructural y la discapacidad. Estos fármacos provocan severos efectos secundarios tales como hepatotoxicidad (HPT), leucopenia, mielosupresión, neumonitis y un elevado riesgo de infecciones bacterianas, virales y parasitarias, así como osteoporosis^{1,6,10}.

La dosis del MTX debe ser >10 mg/semana, administrado por vía oral (v.o), aunque puede administrarse por vía parenteral dependiendo de las condiciones del paciente. Se recomienda iniciar con 7.5 hasta 10 mg/semana en un solo día durante 4 semanas; a la par, se recomienda el ácido fólico (5 a 10 mg) un día des-

pués del MTX. Posteriormente, se realiza un aumento progresivo de entre 2.5 a 5 mg por semana hasta llegar a 20-30 mg/semana entre los 6 primeros meses, según la respuesta clínica y tolerancia. Es recomendable monitorear la respuesta-eficacia del fármaco con estudios clínicos y radiológicos durante 4 semanas para determinar su eficacia^{3,11,12}.

Mecanismo de acción del MTX en AR

A dosis bajas es empleado en procesos inflamatorios crónicos como la AR, por su acción dual (inmunosupresor y antiinflamatorio), ya que tiene la capacidad de bloquear el metabolismo celular e inhibe la división celular, debido a que inhibe la proliferación e induce la apoptosis de los linfocitos T activados mediante la reducción del metabolismo de las purinas y provoca liberación extracelular de adenosina; además, actúa como antiinflamatorio a través de receptores específicos (Tipo A2 y A3). El MTX intracelular, en forma de poliglutamato inhibe la síntesis de purinas al bloquear la enzima 5-aminoimidazol-4-carboxamida ribonucleotido transformilasa (ATIC) y dihidrofolato reductasa; también inhibe la síntesis de pirimidinas al bloquear la timidilato sintasa^{4,13}. Por otro lado, el MTX disminuye la producción de citocinas proinflamatorias, como la interleucina (IL) 12A entre otras, y el interferón gama (INF-g), aumenta la codificación de genes que aumentan la síntesis de proteínas antiinflamatorias (IL-4 e IL-10). Esto provoca una acumulación de AMPc intracelular y lo expulsa de la célula donde se transforma en adenosina y se une al receptor A2a del linfocito (ADORA2a) favoreciendo la síntesis de proteína-quinasa A (pKA), bloqueando la formación de los interferones y en consecuencia inhibe la síntesis de citocinas inflamatorias^{5,14}. El MTX disminuye la producción de otros agentes proinflamatorios como las prostaglandinas y leucotrienos; así como, algunas enzimas proteolíticas⁵.

Toxicidad del MTX

A dosis bajas, el MTX es un fármaco seguro y tolerable, pero se ha descrito que provoca diversos efectos secundarios dependiente del folato (mucositis o toxicidad medular) o independientes del folato como reacciones idiosincráticas a nivel pulmonar, toxicidad hepática y efectos a nivel neurológico⁵. Se estima que el 50% de pacientes tratados con MTX tienen la probabilidad de presentar cáncer: tres veces más de desarrollar melanomas o presentar cáncer de pulmón y cinco veces más de manifestar linfoma⁶. Los efectos adversos se presentan hasta en un 80% de los pacientes, esto provoca que más del 35% de pacientes abandonen el tratamiento; efecto que incide en la progresión de la AR y complicación en su tratamiento. Dentro de los efectos secundarios que provoca el MTX está la HPT, nefrotoxicidad, toxicidad de médula ósea, fibrosis pulmonar y toxicidad gastrointestinal^{13,15}. La nefrotoxicidad es el resultado de la cristalización del MTX en la luz tubular renal, siendo esta una de las principales razones del abandono al tratamiento, debido a que más del 90% del MTX es excretado por vía urinaria, aumentando la creatinina sérica y urea; provocando uremia, hematuria e insuficiencia renal^{13,16,17}. Aproximadamente el 20% del MTX se metaboliza en el hígado dando origen

a 7-hidroxi-MTX (forma activa) y el 5% de este fármaco se metaboliza en intestino (por la flora intestinal) formando ácido 4-amoni-desoxi-N-10-metilpteroico. Además, del 5 al 20% de MTX y entre el 1 y 5% de su metabolito 7-hidroxi-MTX se elimina por bilis, por lo que se recomienda revisar periódicamente parámetros de función hepática¹⁴.

La HPT del MTX es el efecto secundario más grave y común en los tratamientos prolongados y depende de la dosis; induce cambios histológicos en hígado incluyendo esteatosis, hipertrofia de células estrelladas, anisonucleosis y fibrosis hepática. Esta HPT parece aumentar con la dosis acumulada total¹⁸, porque provoca desequilibrio del sistema antioxidante endógeno, afectando la actividad de superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx), catalasa (CAT) y glutatión-S-transferasa (GST) debido a que el MTX al metabolizarse genera metabolitos altamente oxidantes, los cuales inducen estrés oxidativo en las células hepáticas por acumulación de especies reactivas de oxígeno, desencadenando peroxidación de lípidos, disminución del glutatión y alterando parámetros de estrés oxidativo, lo que causa deterioro en la función mitocondrial de los hepatocitos^{19,20}.

El MTX a dosis elevada provoca aumento de enzimas hepáticas [aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT) y fosfatasa alcalina (ALP)] y mielosupresión. Alrededor del 26% de pacientes presentan aumento de aminotransferasas cuando consumen 7.5 mg/semana de MTX. Los principales factores de riesgo para desarrollar hepatopatía por MTX son: el abuso del alcohol, la existencia de enfermedades hepáticas previas (Hepatitis B y C), edad, nutrición, obesidad y diabetes, entre otros²⁰. Al iniciar el tratamiento con MTX e incrementar la dosis se recomienda análisis de enzimas hepáticas (AST, ALT y ALP), creatinina y hemograma cada mes; debido a que los niveles altos de AST se relacionan con mayor incidencia de HPT²¹. El MTX debe suspenderse cuando la AST sobrepasa tres veces el límite superior de normalidad; sin embargo, puede reintroducirse en dosis baja una vez que el valor se normalice. Las alteraciones del ALT son frecuentes pero transitorias y al observar un aumento permanente de su nivel se recomienda biopsias hepáticas para descartar otras causas de elevación, como el uso de antiinflamatorios no esteroideos, obesidad y/o ingesta crónica de alcohol¹². Tomando en cuenta el grave daño que ocasiona el MTX al hígado, es necesario explorar que tipo de sustancias se emplean para contrarrestar este daño. En este manuscrito se compila la información publicada sobre el efecto hepatoprotector de extractos (obtenidos de plantas medicinales) y de compuestos puros ante el daño hepático que provoca el MTX realizados en modelos *in vivo*.

METODOLOGÍA Y RESULTADOS

Para realizar este trabajo se revisaron artículos científicos publicados en los últimos 10 años en revistas indexadas, donde describen el efecto hepatoprotector de extractos orgánicos de plantas medicinales y de sustancias naturales o sintéticos ante el daño hepático provocado por MTX. Las herramientas de búsqueda que se utilizaron fueron: PubMed, Web of Science, Scopus, Academic Search Complete y Google Scholar. Los términos empleados para esta búsqueda fueron la combinación de los siguientes términos en inglés: *Hepatotoxicidad*, *metotrexato*, *artritis reumatoide*, *plantas medicinales*, *compuestos puros* y *hepato-*

protección. Se encontraron 23 artículos (en idioma inglés principalmente) en total; siete describen el efecto HPT de extractos de plantas medicinales y 16 para compuestos naturales o sintéticos.

Responsabilidad Ética

Este trabajo es una revisión bibliográfica y no se realizaron experimentos con animales ni con humanos. Tampoco se describen datos de pacientes.

DISCUSIÓN

Efecto hepatoprotector *in vivo* de extractos polares obtenido de plantas medicinales contra el daño inducido con MTX

Moghadam AR, et al. (2015) evaluaron el efecto hepatoprotector *in vivo* del extracto etanólico (EtOH) de *Curcuma longa* en un modelo murino (ratas Wistar albinas) con daño hepático inducido con MTX, donde emplearon el siguiente esquema de tratamiento: Grupo I, control (SSI/vía oral [v.o.]); los Grupos II y III recibieron el extracto de *C. longa* (100 y 200 mg/kg/ v.o., respectivamente) durante 30 días; el Grupo IV, MTX (20 mg/kg), administrado por vía intraperitoneal (i.p.) en dosis única al día 30; y los Grupos V y VI recibieron el extracto de *C. longa* (a dosis de 100 y 200 mg/kg v.o.) durante 30 días, respectivamente, más MTX (20 mg/kg, vía i.p.) en dosis única al día 30. Al finalizar, los animales fueron sacrificados 4 días después de la administración del MTX y determinaron los niveles de ALT y AST en sangre (indicadores de daño hepático), ALP y bilirrubina (marcadores de función biliar), albúmina (Alb, función hepática); así como, los niveles de SOD, CAT, GPx y lípidos oxidados (Lpx) en tejido hepático. Además, este daño se evaluó a nivel histológico. El MTX indujo severo daño hepático con un intervalo de confianza del 95%, al aumentar los valores de AST, ALP, ALT y disminuir la capacidad antioxidante (SOD, CAT, GPx); el análisis histológico del tejido hepático de los animales con MTX mostró severa degeneración centrilobular y periportal, hiperemia de la vena porta, aumento de infiltración de células inflamatorias arteriales y necrosis; en cambio, estas alteraciones histopatológicas fueron menores en el grupo que recibió el extracto de *C. longa* (200 mg/kg) donde también disminuyó la hiperemia y necrosis. El extracto ejerció principalmente sus efectos mediante la regulación de la capacidad antioxidante (SOD, CAT, GPx) y la regulación de los marcadores hepáticos AST, ALT y ALP causando la mejora de síntesis biliar y hepática. Los autores concluyen que el extracto de *C. longa* disminuye la HPT del MTX porque contiene compuestos antioxidantes y antiinflamatorios¹⁹.

Montaser AO, et al. (2017) reportaron el efecto de la melatonina (MEL); ácido ursodesoxicólico (UDCA) y del extracto acuoso de *Balanites aegyptiaca* (BA) contra la HPT inducida por MTX en ratas machos (Sprague-Dawley). Emplearon los siguientes tratamientos: Grupo I, control [0.5 mL carboximetilcelulosa (CMC) más 1 mL de SSI]; Grupo II, MTX (13.4 mg/kg/vía i.p., disuelto en SSI) al día 30; Grupo III-V, MEL (10 mg/kg), BA (100 mg/kg) y UDCA (20 mg/kg), respectivamente, administrado por v.o. durante 30 días más una dosis única de MTX (13.4 mg/kg/vía i.p.) al día 30. Al finalizar el tratamiento se cuantificó AST, ALT y ALP, y determinaron parámetros del estrés oxidativo (SOD, CAT, GST, glutatión reducido [GR] y GPx) en tejido hepático, junto con el estado antioxidan-

te total (TOS), cuantificación del factor de necrosis tumoral (TNF- α) y análisis histológicos. Los resultados obtenidos mostraron un aumento significativo de ALT, AST, ALP, gamma glutamil transferasa (γ -GT), bilirrubina total y directa, así como los niveles de TNF- α , GPx, Lpx y el óxido nítrico (NO) en el Grupo de MTX y en el grupo MTX + UDCA, estos valores fueron bajos; mientras que en los niveles de proteínas, Alb, TOS, GSH, GPx, GR, (GST) y SOD hubo una reducción significativa tanto en el grupo tratado con MTX y MTX + UDCA con respecto al grupo control. Se observó que el daño que ocasiona el MTX disminuyó al administrar MEL y BA, ya que hubo un incremento de los niveles séricos de PT y Alb, pero redujo AST, ALP, ALT; también hubo una disminución significativa en Lpx, NO y GPx; por lo que concluyeron que BA y MEL ayudan a disminuir el daño hepático inducido por MTX, debido a su actividad antioxidante. Además, recomiendan no administrar conjuntamente UDCA con MTX porque se observó un aumento de la inflamación y aumento en el tamaño de hígado²¹.

En otra investigación, se evaluó el efecto protector del extracto EtOH de las hojas de *Morus nigra* (MUL) contra el daño inducido con MTX en ratas albinas macho. Los animales se dividieron en cuatro grupos: Grupo I, control sano; Grupo II, extracto MUL (500 mg/kg/v.o.) durante 14 días; Grupo III, MTX (20 mg/kg/vía i.p) al tercer día del experimento; Grupo IV, MUL (500 mg/kg/v.o.) durante 14 días + MTX (20 mg/kg), una sola dosis al tercer día del experimento. El día 15 se tomaron muestra de suero y tejido hepático para la determinación de marcadores de función hepática (AST, lípidos de alta densidad -LDH-, ALP y Alb) y para análisis histológico. Los resultados indicaron que el MTX provocó un incremento significativo de los niveles de ALT, AST, ALP y LDH respecto al control sano, mientras que los animales administrados con MUL + MTX mostraron una disminución de estos valores con respecto al MTX ($p < 0,05$); el análisis histológico de los hígados del grupo que recibió MTX mostró cambios en la arquitectura hepática como necrosis hepática centrolobulillar, infiltración celular con fibrosis y el grupo IV, que recibió MTX más extracto no mostro alteración; por lo que concluyen que el extracto de *Morus nigra* protege del daño hepático que ocasiona el MTX²².

También se reportó la evaluación del extracto acuoso de las hojas de *Spinacea oleracea* L. ante el daño que induce el MTX en ratas albinas. En este estudio emplearon tres grupos de animales: Grupo I, control sano; Grupo II, MTX (20 mg/kg/vía i.p. dosis única al inicio del tratamiento) más SSI durante 5 días; y Grupo III, MTX + extracto acuoso de *S. oleracea* (200 mg/kg/v.o.) durante 7 días antes y 5 días después de la administración de MTX (20 mg/kg/vía i.p). Al finalizar el tratamiento se sacrificaron los animales para la toma de muestra de sangre y tejido hepático para la determinación de AST, ALT, ALP y Bilirrubinas, estrés oxidativo (Lpx, GR) y análisis histológico. Los resultados obtenidos mostraron que la administración de MTX provocó un aumento de Lpx y disminución de los niveles de GR, ALP; por el contrario, estos cambios se invirtieron en el grupo tratado con extracto de *S. oleracea*. A nivel histológico, se observó menor daño en el grupo tratado con MTX más extracto *S. oleracea*. Por lo que concluyen que el efecto protector del extracto acuoso de *S. oleracea* contra la HPT inducida por MTX puede atribuirse a los efectos combinados de la quercetina (QE) y kaempferol; estas dos flavonas fueron detectados por análisis de HPLC en el extracto evaluado²³.

Moustafa G. (2016) describió el efecto protector del extracto acuoso del propóleo (PAM, fuente rica de flavonoides con actividad antioxidante) contra la HPT inducida por MTX en rato-

nes albinos machos, con el siguiente esquema de tratamiento: Grupo I, control; Grupo II, MTX (dosis única 20 mg/kg/vía i.p) al día 7 del estudio; Grupo III, administrado durante 7 días con PAM (100 mg/kg/v.o.); Grupos IV, PAM (100 mg/kg/v.o.) administrado durante 7 días más MTX (20 mg/kg/vía i.p, administrado en el día 7); y Grupo V, PAM (100 mg/kg/v.o.) administrado durante 7 días después de la administración de MTX (20 mg/kg/vía i.p) en el día 1. Al finalizar el estudio, los animales fueron sacrificados para toma de muestra de suero y tejido hepático; para determinar AST, ALT, ALP, γ -GT, SOD y CAT. Además, realizaron el análisis histológico de hígado y cuantificaron los niveles de interleucinas (IL-1 β , IL-6, IL-4 e IL-10). Los resultados obtenidos indicaron que el grupo que recibió MTX mostró un incremento en los niveles de ALT, AST, ALP y γ -GT con respecto al control. Por otro lado, el grupo III (PAM) mostró disminución de estos marcadores hepáticos ($p < 0,05$) con respecto al grupo MTX más PAM; por lo que la administración de PAM antes del MTX mostró mejor efecto hepatoprotector. También el grupo PAM mostró un mejor efecto antioxidante y mejoró la respuesta inmune en comparación con el grupo PAM/MTX debido al aumento en la producción de SOD y CAT. Los resultados mostraron elevación significativa en IL-4, IL-10 y disminuyó IL-1 β y IL-6 en todos los grupos tratados con propóleo en comparación con el grupo de MTX, lo que sugiere que el PAM contiene sustancias inmunomoduladores y su administración previa o posterior al uso del MTX disminuye el daño hepático²⁴.

En otro trabajo, se describió el efecto protector del propóleo administrado durante 35 días frente a las alteraciones inducidas por el MTX en tejidos hepáticos y renales. Este estudio se realizó en conejos: Grupo I, control (SSI); Grupo II, MTX (0.25 mg/kg/vía i.p., dosis única, administrado al día 35); Grupo III, PAM (50 mg/kg/v.o.) administrado diariamente durante 35 días + MTX (0.25 mg/kg/vía i.p.) única dosis al día 35; y Grupo IV, PAM (50 mg/kg/día) durante 35 días. Al final del estudio (día 36) se sacrificaron los animales, se tomaron muestras de sangre, hígado y riñón para análisis histológico. Los resultados obtenidos mostraron que el MTX indujo degeneración hidrópica, picnosis, dilatación sinusoidal e hiperplasia del conducto biliar en hígado, junto con degeneración tubular renal, contracción glomerular y una precipitación hialina; mientras que el grupo de propóleo presentó en menor grado estas alteraciones morfológicas. Sin embargo, la contracción glomerular y la degeneración de los túbulos renales fueron parcialmente protegidos en animales que recibieron MTX más propóleo; en los resultados bioquímicos hubo una disminución significativa en AST, ALT en el grupo administrado con propóleo + MTX. Por lo anterior, se concluyó que el tratamiento con propóleo tiene escaso efecto protector ante la toxicidad que provoca el MTX²⁵.

Recientemente, Sharma S, et al. (2020), describieron el efecto protector del extracto EtOH (70%) de la mezcla de 4 plantas medicinales (*Boerhaavia diffusa*, *Cratoera nurvala*, *Nelumbo nucifera* y *Rheum emodi*) contra el daño nefrotóxico que provoca MTX. La mezcla se probó a dosis de 200 y 300 mg/kg en ratas Wistar machos con el siguiente esquema de tratamiento: Grupo I, control; Grupo II, MTX (7 mg/kg/día) administrado por vía i.p. del día 5 al 8; Grupo III y IV, MTX (7 mg/kg/día) del día 5 al 8 más la mezcla de 4 plantas a dosis de 200 y 300 mg/kg, respectivamente, durante 8 días. Los animales fueron sacrificados un día después y se obtuvo el suero para determinar parámetros de función renal (niveles de urea, ácido úrico, creatinina, proteína, globulina y Alb) y marcadores de estrés oxidativo (AST, ALT, CAT, Lpx, ALP), estos marcadores también se determinaron en hígado. Además, realizaron análisis histológico. Los resultados mostraron -en general- que

ambas dosis (200 y 300 mg/kg) de la preparación polihierbal disminuyó los niveles de urea, ácido úrico, creatinina, proteína, globulina y albúmina tanto en suero como en el riñón respecto al grupo de MTX pero sin alcanzar los niveles del control sano. También los parámetros de estrés oxidativo disminuyeron en los grupos MTX más el extracto de la mezcla de las 4 plantas a las dosis probadas sin alcanzar los niveles del control sano. Cabe señalar, que también probaron la mezcla de 3 plantas (*B. diffusa*, *C. nurvala* y *R. emodi*) a la dosis de 594 y 694 mg/kg; sin embargo, esta mezcla fue menos activa que la mezcla de 4 plantas. Ambas mezclas (4 y 3 especies) protegieron del daño renal que provoca el MTX y mostraron una buena actividad antioxidante *in vitro* (>45%) respecto al control positivo (ácido gálico, 83.42%); además, su contenido de flavonoides fue alta y mostraron buen porcentaje (>35%) de inhibición de xantina oxidasa (ensayo *in vitro*)²⁶.

Efecto hepatoprotector de compuestos naturales contra el daño inducido por MTX

El carvacrol (CAR) ha mostrado efecto protector ante la toxicidad hepática inducida con MTX, al ser administrado en ratas Wistar macho. Este ensayo se realizó de la siguiente forma: Grupo I (control); Grupo II (MTX); y el Grupo III, (CAR + MTX). En el día 1, el Grupo III recibió CAR (73 mg/kg/vía i.p.) y en el día 2, los Grupos II y III recibieron una dosis única de MTX (20 mg/kg/vía i.p.). En el día ocho se obtuvo muestra de sangre y tejido hepático para cuantificar ALT, AST, ALP, Lpx, CAT, TOS y análisis histológico. Los resultados obtenidos mostraron que los niveles de Lpx, ALT, AST y ALP aumentaron significativamente en el grupo que sólo recibió MTX con respecto al grupo control. Por otro lado, los resultados del grupo III administrado con CAR + MTX mostró un buen efecto contra la exposición al MTX, debido a que se observó una disminución significativa de Lpx y aumento en AST. Esto se comprobó con los resultados del examen histológico, donde se observó lesión hepática significativa en el grupo de MTX respecto al grupo CAR + MTX; por lo que se concluye que el tratamiento con CAR reduce notablemente el daño hepático inducido por MTX²⁷.

Dalaklioglu S, et al. (2013) reportaron el efecto protector del resveratrol (RVT) frente a la HPT inducida por MTX durante 3 meses. El estudio se realizó en ratas Wistar con el siguiente esquema de tratamiento: Grupo I, control; Grupo II, MTX (7 mg/kg/día/vía i.p.), una vez al día durante 3 días consecutivos; Grupo III, MTX (7 mg/kg/día/vía i.p.) + RVT (20 mg/kg/día/vía i.p.); y Grupo IV, RVT (20 mg/kg/día/vía i.p.). La primera dosis de RVT se administró 3 días antes de la inyección de MTX y se continuó así durante 3 días posteriores. Después del periodo de tratamiento, los animales se anestesiaron para toma de muestra de sangre y se sacrificaron por dislocación cervical para toma de tejido hepático. Los parámetros evaluados fueron: histología del hígado, cuantificación de AST, ALT, ALP; determinación de parámetros de estrés oxidativo [sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), GST y CAT]. Los resultados mostraron que la administración de MTX aumentó significativamente los niveles de ALT, ASP y ALP con respecto al grupo control y se observó una disminución de TBARS, CAT y GST en el grupo administrado con MTX + RVT; estos marcadores (TBARS, CAT y GST) también aumentaron marcadamente en el hígado de los animales que recibieron sólo MTX, con respecto al control. El tratamiento con RVT reduce la HPT inducida por MTX, ya que disminuyó los valores de AST, ALT y

ALP, sin alcanzar los niveles del control. Estos resultados revelaron que la RVT ejerce un efecto protector contra la HPT inducida por MTX, al inhibir la peroxidación de lípidos mediada por estrés oxidativo, por lo que se concluye que el tratamiento con RVT podría ser una estrategia prometedora para disminuir la HPT que provoca el MTX²⁸.

El ácido clorogénico (ACG) también muestra efecto hepatoprotector contra la toxicidad inducida por MTX en ratas Wistar. Los grupos de estudio fueron: Grupo I, control (SSI); Grupo II recibió una dosis única de MTX (20 mg/kg/vía i.p.) en el día 18; los Grupos III y IV fueron pretratados con ACG a la dosis de 50 y 100 mg/kg, respectivamente, durante 20 días y recibieron una dosis única de MTX (al día 18). El día 21 los animales fueron sacrificados por dislocación cervical y se tomaron muestras de hígado. Los resultados obtenidos mostraron que el grupo que recibió MTX mostró un aumento significativo de los marcadores de toxicidad, cambios histológicos, disminución de la actividad de SOD, CAT, GPx; mientras que en los grupos administrados con ACG se observó una reducción de la HPT; hubo disminución en los valores de los marcadores de estrés oxidativo. Estos hallazgos mostraron el efecto hepatoprotector del ACG, debido a que disminuye los mediadores proinflamatorios y apoptóticos; además, estimula el efecto antioxidante en el tejido hepático. Por lo tanto, la administración de ACG ayuda a disminuir la toxicidad por MTX, por ser una sustancia con actividad antioxidante²⁹.

En un trabajo adicional se determinó el efecto benéfico de licopeno (Lyc) contra la toxicidad hepática inducida con MTX en ratas Sprague-Dawley, utilizando el siguiente esquema de tratamiento: Grupo I, Lyc (10 mg/kg disuelto en aceite de maíz); Grupo II, MTX, dosis única de 20 mg/kg/vía i.p. en aceite de maíz, al día uno; Grupo III, MTX (20 mg/kg/vía i.p. dosis única) más Lyc (10 mg/kg/vía oral) durante 10 días posteriores a la administración de MTX. Al terminar el experimento, se cuantificó ALT, ALP, AST y parámetros de estrés oxidativo [CAT, IL-1 β , capacidad antioxidante hepática total (TAC) y TOS] y se realizó análisis histológicos. Los resultados indicaron daño tisular severo, dilatación sinusoidal e infiltración, congestión, degeneración e incremento en los niveles de TNF- α , IL-1 β , TOS y TAC en el tejido hepático del grupo administrado con MTX respecto al grupo control. Por otro lado, se observó una reducción significativa de AST, ALP y de citocinas proinflamatorias (TNF- α , IL-1 β) en el grupo MTX-Lyc respecto al grupo de MTX, indicando que el Lyc reduce el daño hepático, el estrés oxidativo y la inflamación, por lo que los autores concluyeron que este compuesto es eficaz en la reducción de HPT inducida por MTX mediante la disminución de los niveles de citocinas proinflamatorias, pero no de TOS³⁰.

La floridzina (PHL) tiene efecto protector contra la HPT inducida por MTX comparado con control positivo N-acetilcisteína (NAC); para ello, utilizaron ratas macho: Grupo I, control sano; el Grupo II, PHL (40 mg/día/v.o/10 días); el Grupo III, MTX (20 mg/kg/vía i.p., una dosis al tercer día); y los Grupos IV, V y VI recibieron NAC (150 mg/kg/día), PHL (40 mg/kg/día) y PHL (80 mg/kg/día), respectivamente durante 10 días consecutivos; a estos tres últimos grupos se les administró el MTX (20 mg/kg, dosis única) al tercer día de iniciado el tratamiento. Al finalizar la administración, cuantificaron ALT, AST, LDH, TNF- α , ciclooxigenasa-II (COX-2), TAC, TBARS, GR, nitrito (NO₂-), CAT, GST y SOD como biomarcadores de estrés oxidativo; además, se evaluó la expresión de caspasa-3-hepática. En los animales tratados con PHL se redujo significativamente la lesión hepática, porque disminuyó los niveles de ALT,

AST y LDH, TNF- α y los niveles COX-2; además, se observó reducción significativa de los niveles de NO₂- y TBARS, y elevaciones significativas del TAC, GR, GST, CAT y SOD con respecto al grupo de MTX. Por lo que concluyeron que el PHL protege contra la lesión hepática en ratas al disminuir el estrés oxidativo, la inflamación y la apoptosis en hígado y puede ser prometedor para aliviar y/o prevenir la HPT inducida por MTX¹.

Mehrzi S, et al. (2018) describieron el efecto protector de la berberina (BBR) en ratas Wistar machos. Los animales fueron tratados con el siguiente esquema: Grupo I, control (SSI/10 días); Grupo II, MTX (20 mg/kg/vía i.p.) en el día 9; Grupo III, BBR (100 mg/kg) durante 10 días y una dosis de MTX (20 mg/kg/vía i.p.) en el día 9; y Grupo IV, BBR (100 mg/kg/v.o., durante 10 días). En el día 11, se tomaron muestras de sangre para determinar los niveles de ALT, AST y ALP y posteriormente se extrajo el hígado para el análisis histológico y determinar parámetros de estrés oxidativo como Lpx, GR, proteína oxidada (PO), óxido nítrico (NO), CAT, SOD, GPx. Además, determinaron la expresión SOD y GPx por PCR en tiempo real. Los resultados mostraron que el MTX aumentó significativamente los niveles de AST, ALT y ALP ($p < 0,001$) con respecto al control sano; también incrementó los niveles de Lpx, PO, NO₂- y aumentó la actividad de mieloperoxidasa -MPO- ($p < 0,001$, $p < 0,01$, $p < 0,05$ y $p < 0,01$, respectivamente). Además, el MTX disminuyó la actividad de GR, SOD, GPx y CAT ($p < 0,001$) con respecto al control. Al administrar BBR durante 10 días, se observó una disminución de AST y ALT ($p < 0,001$), de Lpx ($p < 0,001$) y de GR, e incrementó la actividad de GPx ($p < 0,05$). Por lo que, concluyen que la BBR es útil para prevenir la HPT inducida por MTX al ejercer efecto benéfico sobre el estrés oxidativo³¹.

También se reportó el efecto protector de la pentoxifilina (PTX) y el ácido alfa lipoico (ALA) contra la HPT y nefrotoxicidad provocada por MTX en ratas machos Sprague-Dawley. En el estudio se incluyó: Grupo I, control; Grupo II, MTX (20 mg/kg/día); Grupo III, MTX + PTX (20 + 50 mg/kg/día de c/u); y Grupo IV, MTX + ALA (20 + 100 mg/kg/día de c/u). La PTX y ALA se administraron durante 10 días por vía oral y el MTX se administró el día uno. Al finalizar el experimento, determinaron los niveles GPx, SOD, CAT, Lpx, NO y xantina oxidasa (XO) en el hígado y riñón. En suero se cuantificó γ -GT, Bilirrubina Directa (DBil) y urea. Los resultados indicaron una disminución significativa del daño causado por MTX en los grupos tratados con PTX y ALA, respecto al grupo que solo recibió MTX, siendo mejor el efecto protector en el grupo que recibió ALA, también se encontró un aumento de los valores de γ -GT, urea y en los niveles de CAT, Lpx, NO y XO en ambos grupos (PTX y ALA), mientras que GPx sólo incrementó en hígado. ALA y PTX protegen del efecto tóxico del MTX en el hígado y los riñones, siendo más activo ALA¹⁷.

Otro trabajo describe el efecto preventivo del ácido gálico (GA) sobre el estrés oxidativo en hígado de rata inducido con el MTX. Emplearon el siguiente esquema de tratamiento: Grupo I, control; Grupo II, MTX (20 mg/kg, i.p.) administrado al día 9; Grupo III, MTX + GA (30 mg/kg/día/vía oral); y Grupo IV, GA (30 mg/kg/día/vía oral), GA se administró durante 10 días y MTX el día 9. El día 11 se tomaron muestras de sangre y tejido hepático. Los marcadores bioquímicos de lesión hepática fueron AST, ALT y ALP, también cuantificaron los niveles de Lpx y GR; así como, la actividad de CAT, SOD, GPx por RT-PCR mediante la expresión de los genes SOD2 y GPx1; además, realizaron análisis histológico. Los resultados obtenidos mostraron que el GA redujo los niveles de AST, ALT y ALP y también disminuyó los niveles de GR, GPx,

CAT y la actividad de SOD disminuyó respecto al grupo de MTX. Así mismo, la expresión de GPx1 y SOD2 disminuyó; de igual manera los resultados histológicos mostraron que el MTX provoca daño hepático y el GA mejoró los cambios histológicos; por lo se concluye que GA protege del daño que ocasiona el MTX por ser una sustancia antioxidante³².

Otro estudio describe el efecto protector de la quercetina (QE) ante la toxicidad inducida por MTX en ratas Sprague-Dawley macho empleando el siguiente esquema de tratamiento: Grupo I, control sano; Grupo II y III, MTX (0.25 y 0.125 mg/kg); Grupo IV, MTX (0.125 mg/kg) + QE (500 mg/kg); Grupo V, MTX (0.25 mg/kg) + QE (500 mg/kg), estos tratamientos, incluyendo el MTX, se administraron v.o. durante 14 días. Al final del tratamiento se tomaron muestras de sangre y se extrajo el cerebro, pulmones, corazón, hígado, riñón, bazo, estómago, yeyuno y el íleon para análisis histológico. Los resultados obtenidos indican que QE mostró importante efecto protector contra el daño que induce el MTX a nivel respiratorio, hepático y renal. Los grupos administrados con MTX a 0.25 y 0.125 mg/kg mostraron significativa pérdida de peso y aumento en los niveles de AST, ALP, ALT y PT respecto al control sano; mientras los grupos que recibieron el tratamiento de MTX/QE mostraron una disminución significativa con respecto al grupo administrados con MTX; de igual manera los valores de urea y creatinina disminuyeron con respecto al grupo con MTX. Por otro lado, los animales con MTX a 0.125 y 0.25 mg/kg mostraron cambios histológicos en pulmón, hígado, riñón y bazo, mostrando alteraciones como: dilatación sinusoidal y congestión leve del parénquima hepático, capilares septales congestionados, alveolos anormales, en comparación con los animales sanos; mientras que los grupos administrados con MTX + QE mostraron menor daño en las células de hígado, pulmones y riñones. Por lo que se concluye que la QE tiene efecto protector y atenuador sobre la toxicidad ocasionada por el MTX en hígado, riñón y aparato respiratorio³³. En dos trabajos adicionales, se reportó el efecto protector de la QE contra la toxicidad renal inducida por MTX mediante estudios bioquímicos e histopatológicos, donde la QE fue administrado por vía oral en ratas machos Wistar y Sprague-Dawley macho^{13,34}. De acuerdo a los hallazgos encontrados, los autores concluyen que la QE reduce los efectos tóxicos renales ocasionados por el MTX.

Otra flavona investigada sobre su potencial efecto hepatoprotector en ratas Wistar hembras (200-250 g) fue la rutina, para este estudio se emplearon 3 grupos: Grupo I, control (0,5 ml SSI/vía i.p.); Grupo II, MTX (20 mg/kg/vía i.p., el día 1) y Grupo III, MTX (20 mg/kg/vía i.p., el día 1) + rutina (100 mg/kg/vía i.p) durante 10 días. En muestra de sangre y tejido hepático determinaron parámetros de estrés oxidativo (Lpx, GPx y SOD), así como marcadores de daño hepático (AST y ALT) y realizaron análisis histológicos de hígado. Los resultados obtenidos indican que el grupo MTX + rutina mostró menor lesión histológica en comparación con el grupo que sólo recibió MTX, también se observó incremento significativo en los niveles de Lpx y ALT, mientras que los valores de SOD y GPx disminuyeron en el grupo MTX en comparación al control. Se concluyó que la rutina puede ser adyuvante para reducir los efectos secundarios que se genera durante la terapia con MTX³⁵.

Un compuesto adicional que ha sido investigado como hepatoprotector ante el daño causado por el MTX es la timoquinona (aislado de *Nigella sativa*). Este estudio lo realizaron en ratas Wistar con el siguiente tratamiento: Grupo I, timoquinona (10 mg/kg/día/v.o.) durante 10 días; Grupo II, MTX (20 mg/kg/v.i.p.), única

dosis al tercer día de tratamiento; Grupo III, MTX (20 mg/kg/v.i.p.), única dosis en el día 3 más timoquinona (10 mg/kg/día/v.o.) durante 10 días; y el Grupo IV, control (vehículo). Al día 11 se sacrificaron los animales y se tomó muestra de sangre (suero) para determinar urea, creatinina, ALT, AST, GR, CAT, iNOS, Lpx, TNF- α , NF- κ B/p65, COX-2 y caspasa 3. Además, extrajeron hígado y riñón para análisis histológico. La timoquinona favoreció la ganancia de peso corporal y disminuyó los valores de los marcadores de función renal (urea y creatinina) y hepático (ALT y AST), respecto al grupo que sólo recibió MTX, siendo mejor el efecto sobre la función renal. Los valores de GR y CAT determinado en hígado y riñón disminuyeron en el grupo de MTX/timoquinona respecto al grupo de MTX. Los valores de GR, Lpx y la relación nitrito/nitrato en riñón fueron similares entre el control y el grupo de timoquinona; sin embargo, este cambio no se observó en hígado. Los valores de iNOS y TNF- α incremento en el grupo de MTX y disminuyó en el grupo de MTX/timoquinona. A nivel histológico, la arquitectura de hígado y riñón del grupo MTX/timoquinona fue similar al control, en cambio el grupo de MTX mostró atrofia glomerular, túbulo renal dilatado y en hígado se observó dilatación y congestión en vena porta. También, el MTX incremento los valores de TNF- α y la expresión de NF- κ B y COX-2 en riñón y la timoquinona disminuyó estos valores. Los autores concluyeron que la timoquinona por su efecto antioxidante, antinitrosativo, antiinflamatorio y antiapoptótico puede emplearse como agente hepato- y nefroprotector para evitar y/o reducir el daño que provoca el MTX^{36,37}.

Efecto hepatoprotector de compuestos sintéticos contra el daño inducido por MTX

Kelleni MT, et al. (2016), reportaron el papel protector de captopril (inhibidor de la enzima convertidora de la angiotensina) y el telmisartán (bloqueador del receptor de angiotensina II con agonismo del receptor gamma proliferativo de peroxisoma) contra la HPT inducida por MTX en un modelo murino (ratas Wistar). Los animales fueron agrupados en: Grupo I, control sano; Grupo II, MTX (20 mg/kg/vía i.p. al quinto día) + captopril (100 mg/kg, durante siete días); Grupo III, MTX (20 mg/kg/vía i.p. al quinto día) + telmisartán (10 mg/kg, durante siete días); y Grupo IV, MTX (20 mg/kg/vía i.p. al quinto día). El octavo día se tomaron muestras de sangre y tejido hepático para la determinación de enzimas hepáticas (AST, ALT, ALP) y estrés oxidativo (Lpx, SOD, CAT y NO). Los resultados del presente estudio revelaron que el grupo de MTX presentó nivel elevado de AST, ALT, ALP y alteración a nivel histológico. El pretratamiento con captopril o telmisartán indujo protección hepática significativa, ya que hubo una disminución significativa ($p < 0,05$) de los niveles séricos de ALT, AST, ALP y niveles Lpx y NOx, así como un aumento significativo sobre la actividad de SOD. Además, a nivel histológico no se observaron daños y hubo una reducción significativa en la expresión de las enzimas COX-2, iNOS y caspasa-3 respecto al grupo MTX. Los autores recomiendan usar captopril o telmisartán en pacientes que reciben MTX; sin embargo, su empleo debe ser bajo estricta supervisión médica¹⁸.

También se ha descrito el efecto HPP del pretratamiento con ozono en casos de HPT inducida por MTX (administrado por vía i.p) en ratas Wistar machos. En este estudio utilizaron 3 grupos de estudio: Grupo I, control (SSI); Grupo II, MTX (una sola dosis, 20 mg/kg/vía i.p., al quinto día) y el Grupo III fue pretratado

con 5 mL de ozono durante 15 días más una dosis de MTX (20 mg/kg) al quinto día del tratamiento. El día 16 se tomaron muestras de sangre y tejido hepático para medir los niveles ALT, AST, Lpx, citoquinas TNF- α , IL-1 β , GR y MPO y para realizar examen histológico. Los resultados muestran que el MTX indujo un aumento de ALT y AST y de Lpx y MPO y disminuyó la concentración de GR. En el grupo pretratado con ozono se observó reducción de estos parámetros bioquímicos y del daño hepático inducido por MTX. El autor concluyó que el ozono ayuda a disminuir la HPT que induce el MTX en ratas³⁸. Es importante mencionar que en la literatura científica se encuentran diversos artículos que describen la actividad antiartrítica de plantas medicinales y/o compuestos puros y utilizan el MTX como control positivo, pero no describen su efecto protector ante el daño que ocasiona el MTX^{10,39-43}.

CONCLUSIONES

La AR es una enfermedad autoinmune progresiva de tipo crónica y el MTX es muy empleado para su tratamiento. Sin embargo, su uso continuo e indiscriminado provoca daño hepático, lo que comprometen la salud del paciente. Dentro de las alternativas de tratamientos que disminuyen y/o protegen del efecto hepatotóxico que ocasiona este fármaco está el empleo de los extractos polares de plantas medicinales (*C. longa*, *Balanites aegyptica*, *Spinacea oleracea*, *Morus nigra* y el própoleo) y una mezcla polihierbal de 4 especies (*Boerhaavia diffusa*, *Cratoera nurvala*, *Nelumbo nucifera* y *Rheum emodi*), los cuales muestran efecto HPT contra el daño que causa el MTX. Además, se ha descrito que 16 compuestos (13 naturales y tres sintéticos) disminuyen el daño HPT que provoca este fármaco, siendo los polifenoles (resveratrol, ácido clorogénico, ácido gálico, carvacrol, berberina, quercetina y rutina) los que han mostrado mejor actividad, por lo que constituyen candidatos potenciales a ser evaluados en estudios pre-clínicos y clínicos. El efecto benéfico de este tipo de compuesto, así como de algunos extractos de plantas medicinales se debe principalmente a su actividad antioxidante y también a su efecto antiinflamatorio.

REFERENCIAS

1. Khalifa MMA, Bakr AG, Osman AT. Protective effects of phloridzin against methotrexate-induced liver toxicity in rats. *Biomed Pharmacother.* 2017; 95: 529-35. DOI: [10.1016/j.biopha.2017.08.121](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.08.121)
2. Hernández-Collazo AA, Rodríguez-Mena AC, Ferrusco-Ontiveros MR, Poletti-Vázquez ED. Estomatitis por metotrexato y sus efectos orales a bajas dosis. *Dermatol Rev Mex.* 2014; 58(5): 458-64. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=52533>
3. Molina JT, Ballina FJ, Calvo J, Caracuel MA, Cabonell J, López A, et al. Recomendaciones para el uso del metotrexato en artritis reumatoide: incremento y reducción de dosis y vías de administración. *Reumatol Clin.* 2015; 11(1): 3-8. DOI: [10.1016/j.reuma.2014.02.012](https://doi.org/10.1016/j.reuma.2014.02.012)
4. Ortega R, Escudero A, Calvo J, Castro MC, Collantes E. Óptima utilización del metotrexato. *Semin Fund Esp Reumatol.* 2013; 14(1): 24-7. DOI: [10.1016/j.semreu.2013.01.004](https://doi.org/10.1016/j.semreu.2013.01.004)
5. Calvo J. Metotrexato en artritis reumatoide. *Reumatol Clin Supl.* 2016; 11(1): 22-8. Disponible en: <https://www.reumatologiaclinica.org/index.php?>

- p=revista&tipo=pdf-simple&pii=X1699258X16545678&r=273
6. Cisneros CÁF, Felgueres PMJ, Vela JE, Gómez MD. Estrategias terapéuticas para la artritis reumatoide: hacia las terapias biotecnológicas. *Investigación Discapac.* 2017; 6(2): 69-87. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=71918>
 7. Wijbrandts CA, Tak PP. Prediction of Response to Targeted Treatment in Rheumatoid Arthritis. *Mayo Clin Proc.* 2017; 92(7): 1129-43. DOI: [10.1016/j.mayocp.2017.05.009](https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2017.05.009)
 8. Mendoza-Vázquez G, Rocha-Muñoz AD, Guerra-Soto AJ, Ramírez-Villafañá M, González-Sánchez AG, Gámez-Nava JI, et al. Artritis reumatoide y dislipidemias. *Residente.* 2013; 8(1): 12-22. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=41888>
 9. Cardiel MH, Díaz-Borjón A, del Mercado MV, Gámez-Nava JI, Barile LA, Pacheco C, et al. Update of the Mexican College of Rheumatology guidelines for the pharmacologic treatment of rheumatoid arthritis. *Reumatol Clin.* 2014; 10(4): 227-40. DOI: [10.1016/j.reuma.2013.10.006](https://doi.org/10.1016/j.reuma.2013.10.006)
 10. Nicasio-Torres MP, Serrano-Román J, Pérez-Hernández J, Jiménez-Ferrer E, Herrera-Ruiz M. Effect of Dichloromethane-Methanol Extract and Tomentin Obtained from *Sphaeralcea angustifolia* Cell Suspensions in a Model of Kaolin/carrageenan-Induced Arthritis. *Planta Med Int Open.* 2017; 4(01): 35-42. DOI: [10.1055/s-0043-108760](https://doi.org/10.1055/s-0043-108760)
 11. Koyama A, Tanaka A, To H. Daily oral administration of low-dose methotrexate has greater antirheumatic effects in collagen-induced arthritis rats. *J Pharm Pharmacol.* 2017; 69(9): 1145-54. DOI: [10.1111/jphp.12752](https://doi.org/10.1111/jphp.12752)
 12. Hernandez-Baldizon S. ¿Cómo hacer buen uso del metotrexato en artritis reumatoide? *Reumatol Clin.* 2012; 8(1): 42-5. DOI: [10.1016/j.reuma.2011.01.010](https://doi.org/10.1016/j.reuma.2011.01.010)
 13. Yuksel Y, Yuksel R, Yagmurca M, Haltas H, Erdamar H, Toktas M, et al. Effects of quercetin on methotrexate-induced nephrotoxicity in rats. *Hum Exp Toxicol.* 2017; 36(1): 51-61. DOI: [10.1177/0960327116637414](https://doi.org/10.1177/0960327116637414)
 14. Goicoechea C. Farmacología del Metotrexato. *Reumatol Clin Supl.* 2016; 11(1): 3-7. Disponible en: <https://www.reumatologiaclinica.org/es-farmacologia-del-metotrexato-articulo-X1699258X16545643>
 15. Khoshnoud S, Kouchesfahani HM, Nabiuni M. Evaluation of the protective effect of hydro-alcoholic extract of Raspberry fruit on aquaporin1 expression in rats kidney treated by methotrexate. *Cell J.* 2017; 19(2): 306-13. DOI: [10.22074/cellj.2016.3957](https://doi.org/10.22074/cellj.2016.3957)
 16. Howard SC, McCormick J, Pui C-H, Buddington RK, Harvey RD. Preventing and managing toxicities of high-dose methotrexate. *Oncologist.* 2017; 21(12): 1471-82. DOI: [10.1634/theoncologist.2015-0164](https://doi.org/10.1634/theoncologist.2015-0164)
 17. Armagan I, Bayram D, Candan IA, Yigit A, Celik E, Armagan HH, et al. Effects of pentoxifylline and alpha lipoic acid on methotrexate-induced damage in liver and kidney of rats. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2015; 39(3): 1122-31. DOI: [10.1016/j.etap.2015.04.003](https://doi.org/10.1016/j.etap.2015.04.003)
 18. Kelleni MT, Ibrahim SA, Abdelrahman AM. Effect of captopril and telmisartan on methotrexate-induced hepatotoxicity in rats: impact of oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Toxicol Mech Methods.* 2016; 26(5): 371-77. DOI: [10.1080/15376516.2016.1191576](https://doi.org/10.1080/15376516.2016.1191576)
 19. Moghadam AR, Tutunchi S, Namvaran-Abbas-Abad A, Yazdi M, Bonyadi F, Mohajeri D, et al. Pre-administration of turmeric prevents methotrexate-induced liver toxicity and oxidative stress. *BMC Complement Altern Med.* 2015; 15(1): 246. DOI: [10.1186/s12906-015-0773-6](https://doi.org/10.1186/s12906-015-0773-6)
 20. Toscano E, Cotta J, Robles M, Lucena MI, Andrade RJ. Toxicidad hepática inducida por los nuevos fármacos inmunosupresores. *Gastroenterol Hepatol.* 2010; 33(1): 54-65. DOI: [10.1016/j.gastrohep.2009.07.003](https://doi.org/10.1016/j.gastrohep.2009.07.003)
 21. Montasser AOS, Saleh H, Ahmed-Farid OA, Saad A, Marie MAS. Protective effects of *Balanites aegyptiaca* extract, melatonin and ursodeoxycholic acid against hepatotoxicity induced by methotrexate in male rats. *Asian Pac J Trop Med.* 2017; 10(6): 557-65. DOI: [10.1016/j.apjtm.2017.06.003](https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.06.003)
 22. Tag HM. Hepatoprotective effect of mulberry (*Morus nigra*) leaves extract against methotrexate induced hepatotoxicity in male albino rat. *BMC Complement Altern Med.* 2015; 15(1): 252-9. DOI: [10.1186/s12906-015-0744-y](https://doi.org/10.1186/s12906-015-0744-y)
 23. Abdul-Wahab FK, Abdul TZ. Study of Iraqi spinach leaves (Phytochemical and protective effects against methotrexate-induced hepatotoxicity in rats). *Iraqi J Pharm Sci.* 2012; 21(2): 8-17. Disponible en: <https://bijps.uobaghdad.edu.iq/index.php/bijps/article/view/453>
 24. Moustafa G. Ameliorative Effect of Propolis Extract on Hepatotoxicity Induced by Methotrexate in Mice. *Asian J Applied Sci.* 2016; 4(4): 963-70. Disponible en: <https://www.ajouronline.com/index.php/AJAS/article/view/3804>
 25. Almansour MI, Jarrar YB, Aloyaidy KA, Jarrar BM. Ameliorative Effect of Propolis Against Hepatorenal Alterations Induced by Methotrexate: Morphohistopathological Study. *Int J Morphol.* 2017; 35(2): 756-64. DOI: [10.4067/S0717-95022017000200059](https://doi.org/10.4067/S0717-95022017000200059)
 26. Sharma S, Baboota S, Amin S, Mir SR. Ameliorative effect of a standardized polyherbal combination in methotrexate-induced nephrotoxicity in the rat. *Pharm Biol.* 2020; 58(1): 184-99. DOI: [10.1080/13880209.2020.1717549](https://doi.org/10.1080/13880209.2020.1717549)
 27. Bozkurt M, Bodakci MN, Turku G, Kuyumcu M, Akkurt M, Sula B, et al. Protective Effects of Carvacrol Against Methotrexate-induced Liver Toxicity in Rats. *Acta Chir Belg.* 2014; 114(6): 404-9. DOI: [10.1080/00015458.2014.11681052](https://doi.org/10.1080/00015458.2014.11681052)
 28. Dalaklioglu S, Genc GE, Aksoy NH, Akcıt F, Gumuslu S. Resveratrol ameliorates methotrexate-induced hepatotoxicity in rats via inhibition of lipid peroxidation. *Hum Exp Toxicol.* 2013; 32(6): 662-71. DOI: [10.1177/0960327112468178](https://doi.org/10.1177/0960327112468178)
 29. Ali N, Rashid S, Nafees S, Hasan SK, Shahid A, Majed F, et al. Protective effect of Chlorogenic acid against methotrexate induced oxidative stress, inflammation and apoptosis in rat liver: An experimental approach. *Chem-Biol Interact.* 2017; 272: 80-91. DOI: [10.1016/j.cbi.2017.05.002](https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.05.002)
 30. Yucel Y, Oguz E, Kocarslan S, Tatli F, Gozeneli O, Seker A, et al. The effects of lycopene on methotrexate-induced liver injury in rats. *Bratisl Med J.* 2017; 118(4): 212-6. DOI: [10.4149/BLL_2017_042](https://doi.org/10.4149/BLL_2017_042)
 31. Mehrzadi S, Fatemi I, Esmaeilzadeh M, Ghaznavi H, Kalantar H, Goudarzi M. Hepatoprotective effect of berberine against methotrexate induced liver toxicity in rats. *Biomed Pharmacother.* 2018; 97: 233-9. DOI: [10.1016/j.biopha.2017.10.113](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.113)
 32. Safaei F, Mehrzadi S, Haghghian HK, Hosseinzadeh A, Nesarani A, Dolatshahi M, et al. Protective effects of gallic acid against methotrexate-induced toxicity in rats. *Acta Chir Belg.* 2018; 118(3): 152-60. DOI: [10.1080/00015458.2017.1394672](https://doi.org/10.1080/00015458.2017.1394672)
 33. David AVA, Satyanarayana N, Parasuraman S, Bharathi S, Arulmoli R. Ameliorative Effect of Quercetin on Metho-

- trexate Induced Toxicity in Sprague-Dawley Rats: A Histopathological Study. *Indian J Pharm Educ Res.* 2016; 50(35): S200-S208. DOI: [10.5530/ijper.50.3.30](https://doi.org/10.5530/ijper.50.3.30)
34. Erboga M, Aktas C, Erboga ZF, Donmez YB, Gurel A. Quercetin ameliorates methotrexate-induced renal damage, apoptosis and oxidative stress in rats. *Ren Fail.* 2015; 37(9): 1492-7. DOI: [10.3109/08866022X.2015.1074521](https://doi.org/10.3109/08866022X.2015.1074521)
 35. Erdogan E, Ilgaz Y, Gurgor PN, Oztas Y, Topal T, Oztas E. Rutin ameliorates methotrexate induced hepatic injury in rats. *Acta Cir Bras.* 2015; 30(11): 778-84. DOI: [10.1590/S0102-865020150110000009](https://doi.org/10.1590/S0102-865020150110000009)
 36. Azza Z, Oudghiri M. In vivo anti-inflammatory and antiarthritic activities of aqueous extracts from *Thymelaea hirsute*. *Pharmacogn Res.* 6459; 1(6): 657-6. DOI: [10.4103/0974-8490.150510](https://doi.org/10.4103/0974-8490.150510)
 37. El-Sheikh AAK, Mohamed MA, Abdalla AM, Hamouda AH, Alhaider IA. Mechanisms of thymoquinone hepatorenal protection in methotrexate-induced toxicity in rats. *Mediators Inflamm.* 2015; 859383. DOI: [10.1155/2015/859383](https://doi.org/10.1155/2015/859383)
 38. Aslaner A, Çakır T, Çelik B, Doğan U, Akyüz C, Baştürk A, et al. The protective effect of intraperitoneal medical ozone preconditioning and treatment on hepatotoxicity induced by methotrexate. *Int J Clin Exp Med.* 2015; 8(8): 13303-9. Disponible en: <http://www.ijcem.com/files/ijcem0011550.pdf>
 39. Hua L-P, Zhang Y-Q, Ye M, Xu W, Wang X-Y, Fu Y-H, et al. A new polyoxygenated abietane diterpenoid from the rhatans of *Bauhinia championii* (benth.) Benth. *Nat Prod Rep.* 2018; 32(21): 2577-82. DOI: [10.1080/14786419.2018.1428594](https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1428594)
 40. El-Hawary SS, Mohammed R, Abouzid S, Ali ZY, Elwekeel A. Anti-arthritis activity of 11-O-(4'-O-methyl galloyl)-bergenin and *Crassula capitella* extract in rats. *J Pharm Pharmacol.* 2016; 68(6): 834-44. DOI: [10.1111/jphp.12566](https://doi.org/10.1111/jphp.12566)
 41. Buddhachat K, Chomdej S, Pradit W, Nganvongpanit K, Ongchai S. *In vitro* chondroprotective potential of extracts obtained from various *Phyllanthus* species. *Planta Med.* 2017; 83(01/02): 87-96. DOI: [10.1055/s-0042-110097](https://doi.org/10.1055/s-0042-110097)
 42. Twumasi MA, Tandoh A, Mante PK, Ekuadzi E, Boakye-Gyasi ME, Benneh CK, et al. Leaves and stems of *Capparis erythocarpos*, more sustainable than root, show antiarthritic effects. *J Ethnopharmacol.* 2019; 238: 111890. DOI: [10.1016/j.jep.2019.111890](https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.111890)
 43. Amresh G, Singh PN, Rao ChV. Antinociceptive and antiarthritic activity of *Cissampelos pareira* roots. *J Ethnopharmacol.* 2007; 111(3): 531-6. DOI: [10.1016/j.jep.2006.12.026](https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.12.026)

FINANCIAMIENTO

La autora declara que no recibió apoyo financiero de personas físicas o morales.

CONFLICTOS DE INTERÉS

La autora declara que no tiene conflictos de interés.